

B15

**IRRADIATION OF LASER ON LIVING CELL**

Patent Number: JP2186993  
Publication date: 1990-07-23  
Inventor(s): NAKANO TAKAMORI; others: 04  
Applicant(s): HITACHI LTD; others: 01  
Requested Patent: ☐ JP2186993  
Application Number: JP19890005010 19890113  
Priority Number(s):  
IPC Classification: C12N15/87; C12N5/10  
EC Classification:  
Equivalents:

---

**Abstract**

---

**PURPOSE:**To enable ready irradiation of laser on floating living cells and improve accuracy of focus and recovery percentage of treated cells by adhering floating cells to a cover glass in a serum-free medium and subsequently irradiating laser on the above-mentioned cells.

**CONSTITUTION:**Floating living cells are adhered to a cover glass in a serum-free medium and laser is then irradiated on the floating living cells adhered to the above-mentioned cover glass. Specifically, dispersed floating living cells 1 are put into the serum-free medium 4 in a schale 6 to which the cover glass 3 is bonded and precipitated and the cells 1 are adhered to the cover glass 3. The serum-free medium 4 is subsequently removed and the cover glass 3 is then turned upward to irradiate the laser 2 thereon.

---

Data supplied from the esp@cenet database - I2

## ⑫ 公開特許公報(A)

平2-186993

⑪ Int. Cl.<sup>3</sup>

識別記号

庁内整理番号

⑬ 公開 平成2年(1990)7月23日

C 12 N 15/87

8717-4B  
8515-4BC 12 N 15/00  
5/00A  
B※

審査請求 未請求 請求項の数 3 (全3頁)

⑭ 発明の名称 生細胞へのレーザー光照射方法

⑮ 特 願 平1-5010

⑯ 出 願 平1(1989)1月13日

⑰ 発 明 者 中 野 隆 盛 山口県下松市大字東豊井794番地 株式会社日立製作所笠戸工場内

⑰ 発 明 者 村 上 聖 山口県下松市大字東豊井794番地 株式会社日立製作所笠戸工場内

⑰ 発 明 者 高 井 正 生 山口県下松市大字東豊井794番地 株式会社日立製作所笠戸工場内

⑰ 出 願 人 株式会社日立製作所 東京都千代田区神田駿河台4丁目6番地

⑰ 出 願 人 磯 部 健 一 愛知県春日井市白山町1丁目61番地の5 白山台2-501

⑰ 代 理 人 弁理士 小川 勝男 外1名

最終頁に続く

## 明 細 書

## 1. 発明の名称

生細胞へのレーザー光照射方法

## 2. 特許請求の範囲

1. 生細胞へのレーザー光照射方法において、浮遊性細胞を無血清培地中でカバーガラスに付着させ、該カバーガラスに付着した浮遊性細胞にレーザー光を照射させることを特徴とする生細胞へのレーザー光照射方法。

2. 生細胞へのレーザー光照射方法において、浮遊性細胞を無血清培地中で沈殿によりカバーガラスに付着させた後、前記無血清培地を取り除き、DNA溶液を加えた状態で前記カバーガラスに付着した浮遊性細胞にレーザー光を照射させることを特徴とする生細胞へのレーザー光照射方法。

3. 生細胞へのレーザー光照射方法において、浮遊性細胞を容器内の無血清培地中で沈殿によりカバーガラスに付着させ、前記容器内の無血清培地を取り除き、DNA溶液を加えた状態で前

記カバーガラスに付着した浮遊性細胞にレーザー光を照射させ、その後容器内のDNAを取り除き、選択培地を加えることを特徴とする生細胞へのレーザー光照射方法。

## 3. 発明の詳細な説明

## 〔産業上の利用分野〕

本発明は、生細胞へのレーザー光照射方法に係り、特に浮遊性の生細胞へのレーザー光照射に好適な生細胞へのレーザー光照射方法に関するものである。

## 〔従来の技術〕

生細胞への遺伝子等の注入方法の中で、すぐれた機能を有する方法として、特公昭62-7837号に記載のようなレーザー光による穿孔方法がある。

この方法は遺伝子等を含む液中に生細胞を浸しておき、生細胞にレーザー光をレンズを通して集光させることにより細胞膜の透過性を一時的に向上させ、遺伝子等を生細胞内に取り込ませるものである。

〔発明が解決しようとする課題〕

上記従来技術は、浮遊性の生細胞へのレーザー光照射について配慮がされておらず、溶液中の細胞がレーザー光照射時に動き、フォーカスがずれるという不具合や、またレーザー光照射後に処理された細胞を全て回収することが非常に困難であるという不具合があった。

本発明の目的は、上記両者の不具合を解決し、フォーカスの精度や処理された細胞の回収率等の向上を図る生細胞へのレーザー光照射方法を提供することにある。

〔課題を解決するための手段〕

上記目的は、培養中の浮遊性の生細胞は、無血清培地中では容器のガラス面に付着するという性質を利用して、容器内の無血清培地中にレーザー光照射用カバーガラスを入れておくことで浮遊性の生細胞が前記カバーガラスに付着することにより、達成される。

〔作 用〕

浮遊性の生細胞はカバーガラスに付着している

5を加えて、形質発現を待つ。

第2図は本発明の他の実施例を示すものであり、第2図は第1図のカバーガラス付シャーレの代りに培養ビン7を用いた場合を示している。これらの方法によれば、正立型顕微鏡が使用できる、細胞が付着しているため培地交換が容易である等の効果がある。

第3図は本発明の他の実施例を示すものであり、シャーレ6の中にあらかじめカバーガラス3を入れておき、レーザ2をカバーガラス3上の細胞にのみ照射し〔第3図(b)〕、レーザ照射後カバーガラス3ごと細胞を選択培地5中に移すものである。本実施例によれば、レーザーを照射した細胞と照射しない細胞とを容易に分けることが可能となる。

第4図は本発明の無血清培地中で高密度にカバーガラス上に付着させた浮遊性細胞1にレーザー光2を走査して照射する場合である。この場合、細胞が付着しているためレーザー光2を照射しても移動しないため、高効率にレーザー光照射が可

ために、細胞の動きは止まりレーザー光照射のためのフォーカス調整が容易となり、誤動作することがない。また細胞の回収においても細胞が付着しているカバーガラスを培地中に移すだけなので非常に容易に行なえ、簡略化できる。

〔実施例〕

以下本発明の一実施例を第1図～第4図により説明する。

図において、第1図(a)のようにカバーガラス3を装着したシャーレ6中の無血清培地4中に懸濁した浮遊性細胞1を入れておくと、第1図(b)のように浮遊性細胞1は沈殿しカバーガラス3上に付着する。その後無血清培地4を取り除き、カバーガラス3を逆さにしても落ちない程度のDNA溶液8を浮遊性細胞1に加え、カバーガラス3を上向きにしてレーザー光2を浮遊性細胞1に照射する。この場合、レーザー光2の照射装置として正立型の顕微鏡を使用して見るためレーザー光2は上側から照射される。その後DNA溶液8を取り除き、カバーガラス3を下にして、選択培地

5を用いる。なお、上記実施例類は、選択培地を用いたもので説明したが、選択培地を使用しない場合にも本願発明は適用できる。

本実施例によれば、浮遊性の生細胞へのレーザー光照射が容易になり、実質効率の向上や安全性の向上が図れる等の効果がある。

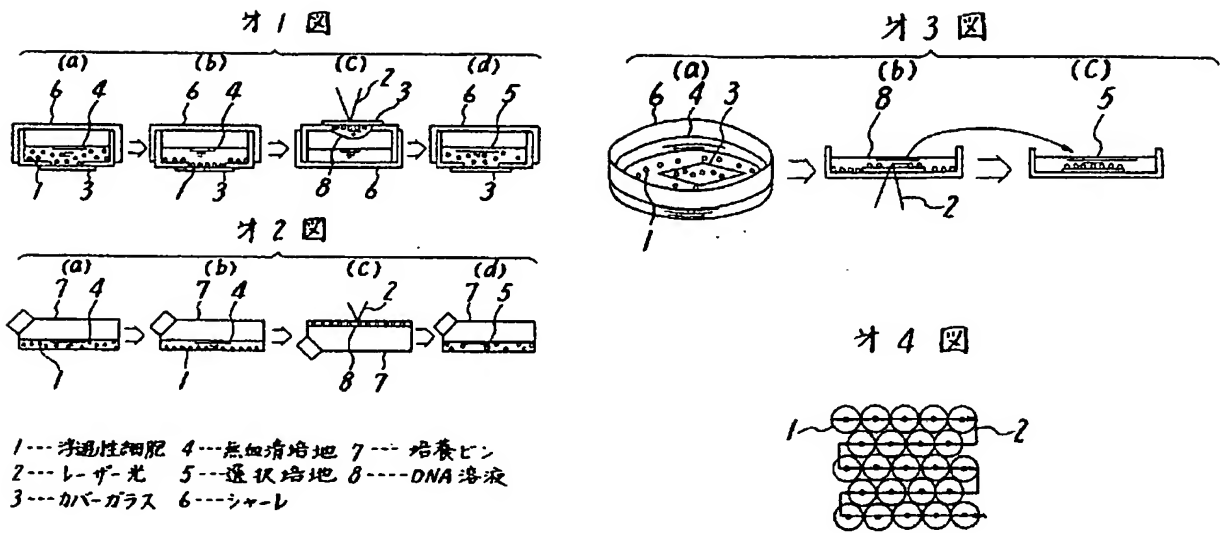
〔発明の効果〕

本発明によれば、浮遊性の生細胞へのレーザー光照射が容易になり、フォーカスの精度や処理された細胞の回収率等の向上が図れる効果がある。

#### 4. 図面の簡単な説明

第1図は本発明の一実施例の浮遊性細胞を付着させる場合の説明図、第2図は同じく他の実施例の説明図、第3図は同じくさらに他の実施例の図、第4図は高密度に付着させた場合のレーザー走査を示す説明図である。

1……浮遊性細胞、2……レーザー光、3……カバーガラス、4……無血清培地、5……選択培地、6……シャーレ、7……培地ビン、8……DNA溶液



第1頁の続き

⑨Int. Cl. 5

識別記号

庁内整理番号

C 12 N 5/10  
// C 12 M 1/00

A

8717-4B

⑦発明者 木村 信夫

茨城県土浦市神立町502番地 株式会社日立製作所機械研究所内

⑦発明者 磯部 健一

愛知県春日井市白山町1丁目61番地の5 白山台2-501